



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Study on Epithelial Homeostasis Mechanism at the Initial Stage of Carcinogenesis [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	石橋, 公二郎
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	甲第13665号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74125
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Kojiro_Ishibashi_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（理学） 氏名 石橋 公二郎

審査担当者	主査	教授	村上 洋太
	副査	教授	高木 睦
	副査	教授	坂口 和靖
	副査	教授	藤田 恭之

学 位 論 文 題 名

Study on Epithelial Homeostasis Mechanism at the Initial Stage of Carcinogenesis
(発がんの超初期段階における上皮組織恒常性維持機構に関する研究)

日本人の3人に1人ががんで死亡する。この現状を打破するべく、様々な研究が盛んに行われ、治療法の開発が進められているが、依然として効果的な治療法、予防法の開発には至っていない。従来の研究の主流は、がん発生の後期におけるがん細胞と正常細胞の違いに着目し、それらをターゲットとした薬剤を開発することであり、それらの研究において、発がんの超初期段階において生じた変異細胞とその周囲の正常細胞の相互作用については顧みられていなかった。そこで、細胞培養系を用いて発がんの超初期段階、すなわち正常上皮細胞層に少数のがん変異細胞が生じた段階を模倣したところ、これらの変異細胞が細胞層の頂端側へ排除されること (apical extrusion) が明らかになった。この現象は変異細胞を単独で培養したときには起きないことから、変異細胞は周囲の正常細胞との相互作用によって排除されており、これは正常上皮細胞に備わった上皮恒常性維持機構であると考えられている。しかしながら、このような正常上皮細胞と変異細胞の間で生じる上皮恒常性維持機構における認識機構については未だ明らかになっておらず、これを明らかにすることを本研究の目的とした。

本学位論文は全4章で構成されている。

第1章では、本研究に関する総括的な序論と研究背景および目的を記述している。

第2章では、apical extrusion おける代謝変化の関与を検討した。その結果、周囲を正常細胞に囲まれた RasV12 変異細胞において、ミトコンドリア機能の低下、および解糖系代謝の亢進という Warburg-effect 様の代謝変化が観察された。また、この代謝変化の上流因子としてミトコンドリア代謝を負に制御する酵素である PDK4 を同定した。さらに、PDK4 をノックダウンした RasV12 変異細胞では apical extrusion が抑制されたことから、Warburg-effect 様の代謝変化が変異細胞の apical extrusion に重要であることが明らかになった。また、PDK4 の発現上昇を介した Warburg-effect 様の代謝変化は、周囲の正常細胞との相互作用によって引き起こされることから、発がんの超初期段階における Warburg-effect 様の代謝変化は、周囲の正常細胞による発がん抑制機構のひとつであることを示している。

第3章では、正常細胞と変異細胞の間の認識機構における AHNAK2 の関与を検討した。正常上皮細胞と変異細胞の境界で特異的にリン酸化が亢進するタンパク質を安定同位体標識によるタンパク質の定量的比較解析 (SILAC) 法により調べた結果、混合培養時に非常に高いレベルでリン酸化が亢進するタンパク質として AHNAK2 が同定された。リン酸化 AHNAK2 を特異的に認識する抗体を作製し、免疫染色法を行った結果、変異細胞と混合培養した正常細胞内で AHNAK2 のリン酸化が亢進することが明らかとなった。また、上流パスウェイの同定を行った結果、AHNAK2 のリン酸化は Ca^{2+} -PKC によって制御されていることが明らかになった。さらに、 Ca^{2+} の流入はメカノセンシティブカルシウムチャネルの一種である TRPC1 を介して引き起こされていることから、AHNAK2 のリン酸化と機械刺激の関与についてストレッチチャンバーを用いて検討した。その結果、機械刺激依存的にカルシウムレベルの上昇と AHNAK2 のリン酸化が引き起こされた。さらに、混合培養時の AHNAK2 のリン酸化の亢進も TRPC1 依存的であったことから、混合培養時に引き起こされる力学的なひずみを正常細胞が認識し、TRPC1- Ca^{2+} -PKC-AHNAK2 パスウェイを活性化させることが明らかになった。これは、機械的刺激という物理的な変化を細胞が認識し、AHNAK2 を介して化学シグナルへと変換するという、細胞間認識の新たなモデルを提唱する研究である。

第4章では、本論文の結論を記述している。

本研究は発がんの超初期段階において正常細胞に囲まれた変異細胞で、発がん後期段階で観察される Warburg-effect と類似した代謝の変化が引き起こされ変異細胞の排除に寄与するという新奇で興味深い結果を提示している。さらに、変異細胞の出現により生じた力学的なひずみを正常細胞が感知するという新たな細胞間認識機構を示した点でも新しく、全体として細胞間認識機構とそれに伴う正常細胞内、変異細胞内での細胞非自律的な変化を包括的に示したものである。これらは発がんの初期過程の理解や発がん予防にもつながる重要な研究として高く評価できる。

よって、著者は北海道大学博士（理学）の学位を授与する資格があるものと認める。